

Aus dem Departement für Nutztiere,
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. U. Braun

Abteilung für Schweinemedizin
Arbeit unter der Leitung von Dr. FVH X. Sidler

**Effektivitätsstudie von Enterisol® Ileitis und Ingelvac CircoFLEX®
in einem schweizerischen Zucht- und Mastbetrieb**

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Helen Weibel
von Willisau, LU

genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. Andreas Pospischil, Referent
Prof. Dr. Rico Thun, Korreferent

Zürich 2009

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung.....	2
1.1	Deutsch.....	2
1.2	Englisch	3
2	Einführung.....	4
3	Material und Methoden	7
3.1	Betriebe	7
3.2	Versuchsaufbau	8
3.3	Pathologie.....	9
3.4	Weitere erhobene Parameter.....	10
3.5	Ausschlusskriterien	10
3.6	Statistische Auswertungen.....	10
4	Resultate.....	11
4.1	Mortalitätsraten und Sektionsergebnisse	11
4.2	Tageszunahmen	13
4.3	Laboranalysen	14
5	Diskussion.....	16
6	Literaturverzeichnis.....	19

1 Zusammenfassung

1.1 Deutsch

In dieser Studie wurde die Effektivität der zeitgleichen Verabreichung von zwei Ferkelimpfstoffen gegenüber den Monoanwendungen und der Placeboanwendung untersucht. Ein Subunit-Impfstoff gegen das Porcine Circovirus Typ 2 (PCV2) und eine Lebendvakzine gegen *Lawsonia (L.) intracellularis* wurden den Ferkeln in einem Alter von durchschnittlich 23,5 Tagen appliziert. Die 1405 Tiere wurden zufällig in vier Behandlungsgruppen aufgeteilt; der ersten Gruppe (n = 327) wurden Placeboimpfstoffe appliziert, der zweiten (n = 376) der PCV2-Impfstoff und orales Placebo, der dritten (n = 318) der *L. intracellularis*-Impfstoff und parenterales Placebo und der vierten (n = 384) beide Impfstoffe. Alle Tiere der Studie wurden ab dem Zeitpunkt der Impfungen bis zur Schlachtung verfolgt. Bei den gegen PCV2 geimpften Tieren wurde kein Todesfall aufgrund einer PCV2-Infektion festgestellt; im Gegensatz dazu gab es bei den mit PCV2-Placebo geimpften Tieren 28 Todesfälle. In der Mast erreichten die zweifach geimpften Tiere signifikant höhere Tageszunahmen (792 g/Tag) als die einfach geimpften (772 und 774 g/Tag) und alle drei Gruppen wiederum signifikant höhere als die der Placebogruppe (751 g/Tag). Die Mortalitätsrate der Placebogruppe in der Mast (6,3 %) war signifikant höher als die der restlichen Gruppen (zweifach: 1,1 %; einfach: 2,3 und 2,5 %). Diese Daten zeigen, dass die zeitgleiche Verabreichung einer PCV2- und *L. intracellularis*-Impfung additive Effekte bei den Leistungsparametern bewirkt.

1.2 Englisch

This field study was conducted to investigate the effect of simultaneous application of two vaccines compared to mono or placebo application. A subunit vaccine against porcine circovirus type 2 (PCV2) and an attenuated live culture vaccine against *Lawsonia (L.) intracellularis* were applied to the suckling piglets at an average age of 23.5 days. 1405 piglets were randomized into four treatment groups; the first one with application of placebo vaccines (n = 327), the second only with the PCV2 vaccine (n = 376) and oral placebo, the third only with the *L. intracellularis* vaccine (n = 318) and parenteral placebo and the fourth with both vaccines (n = 384). All animals of this study were observed from the day of vaccination to slaughter. No death caused by PCV2 infection was diagnosed in the PCV2 vaccinated groups compared to 28 cases of death in the placebo-treated groups. During the fattening period double vaccinated animals exhibited a significant improved average daily weight gain (792 g/day) compared to the mono applications (772 and 774 g/day). All three vaccinated groups had a significant improve compared to the placebo-treated group (751 g/day). The mortality rate of the placebo-treated group in the fattening period (6.3 %) was significant higher than all the other treatment groups (double: 1.1 %, mono: 2.3 % and 2.5 %). These data indicate that the simultaneous application of a PCV2 and a *L. intracellularis* vaccine produces additive effects on the pig performance parameters.

2 Einführung

Porcine Proliferative Enteropathie (PPE) verursacht durch *Lawsonia* (*L.*) *intracellularis* und Erkrankungen im Zusammenhang mit dem Porcinen Circovirus Typ 2 (PCV2), Porcine Circovirus Diseases (PCVD) genannt (Segalés et al., 2005), haben in der schweizerischen und weltweiten Schweineproduktion eine grosse wirtschaftliche Bedeutung.

L. intracellularis ist ein obligat intrazelluläres, gram-negatives, säurefestes stäbchenförmiges Bakterium (McOrist et al., 1995). Der Krankheitskomplex der PPE umfasst akute und chronische sowie subklinische Darmerkrankungen. Bei der akuten Form, der Proliferativen Hämorrhagischen Enteropathie erkranken am häufigsten 4 bis 12 Monate alte Tiere. Sie haben akute Blutungsanämien und meist schwarzen, teerfarbenen Kot (McOrist und Gebhart, 1999). Die Porcine Intestinale Adenomatose (PIA) als häufigste Form der chronischen Erkrankungen wird meist bei Tieren zwischen 6 und 20 Wochen beobachtet (McOrist und Gebhart, 1999). Klinisch auffällig sind vermindertes Wachstum und Auseinanderwachsen der Gruppe sowie Durchfall. In der Histologie können die intrazellulären Stäbchen mittels einer Warthin-Starry-Versilberung (W+S) oder eines Immunfluoreszenztests (McOrist et al., 1987) in den Enterozyten der Ileumschleimhaut nachgewiesen werden. Im Kot ist der Nachweis der Bakterien mit einer Polymerase-Kettenreaktion (PCR) möglich, jedoch ist die Ausscheidung intermittierend (Jones et al., 1993). Die Seroprävalenz liegt in der Schweiz mit 67 % über dem durchschnittlichen europäischen Mittelwert (Caspari et al., 2005).

PCVD umfasst unter anderem die klinischen Erscheinungsformen Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) und Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome (PDNS) (Segalés et al., 2005). 1991 wurde PMWS in Kanada erstmals als neues Krankheitsbild beobachtet (Clark, 1997; Harding und Clark, 1997). Dieses Syndrom tritt meist bei Schweinen im Alter von 5 bis 12 Wochen auf (Allan und Ellis, 2000). Neuerdings beobachtet man häufiger auch Erkrankungen in höherem Alter. Klinisch zeigen die Tiere Kümern, profusen, therapieresistenten Durchfall, Dyspnoe, vergrösserte Lymphknoten, Anämie und gelegentlich Ikterus sowie vermehrt Magengeschwüre (Allan und Ellis, 2000; Harding und Clark, 1997). Der Nachweis der Viren ist mittels Immunhistochemie (IHC), PCR und in-situ Hybridisierung in den lymphatischen Organen möglich (Rosell et al., 1999). PDNS als

Krankheitsbild wurde erstmals 1993 in Grossbritannien beschrieben (Smith et al., 1993). Die Tiere erkrankten mit einem Körpergewicht von 40 bis 70 kg und weisen als auffälligste Merkmale bläulich-rote, glatte, nicht erhobene Hautveränderungen und eine Glomerulonephritis auf. Der Zusammenhang zwischen PCV2 und PDNS ist noch nicht gesichert (Wellenberg et al., 2004). Bis heute ist auch die Rolle von Kofaktoren bei PCVD nicht eindeutig geklärt. Diskutiert werden Koinfektionen, eine Immunstimulation, eine prädisponierende genetische Anfälligkeit des Wirtes oder die Existenz von unterschiedlich pathogenen Genotypen von PCV2 (Opriessnig et al., 2007). Der massive Anstieg der diagnostizierten PMWS- und PDNS-Fälle ab dem Jahr 2003 in der Schweiz ist möglicherweise durch einen „shift“ vom apathogen PCV2a-Genotyp zum pathogenen PCV2b zu erklären (Wiederkehr et al., 2009).

Ein avirulenter Lebendimpfstoff (Enterisol® Ileitis, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Deutschland) zum Schutz vor PPE wurde in der Schweiz im Jahr 2005 zugelassen. Durch eine Effektivitätsstudie konnte die Wirksamkeit und Wirtschaftlichkeit des Impfstoffes unter schweizerischen Haltungsbedingungen gezeigt werden (Caspari et al., 2009). Geimpfte Tiere hatten in der Aufzucht und der Mast signifikant höhere Tageszunahmen als ungeimpfte.

Seit April 2008 ist in der Schweiz ein Ferkelimpfstoff (Ingelvac CircoFLEX®, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Deutschland) zur Prophylaxe von PCVD zugelassen. Zu diesem Impfstoff wurden weltweit, nicht aber in der Schweiz, mehrere Studien über die Wirksamkeit durchgeführt. Dabei konnte zum Beispiel in einer Studie in Süddeutschland gezeigt werden, dass geimpfte Tiere signifikant bessere Leistungsparameter wie höhere Tageszunahmen und geringere Mortalitätsraten aufwiesen (Kixmüller et al., 2008).

Die Schweiz weist in der Schweineproduktion im Vergleich zu anderen europäischen Ländern einige Besonderheiten auf. Einerseits sind dies die kleinen Betriebsgrößen mit einem Durchschnitt von 41,7 Mutterschweinen pro Zuchtbetrieb (Suisag, 2009) sowie die häufige Verwendung von Nebenprodukten der Nahrungsmittelindustrie (Schotte, Gastrosuppe, Joghurt etc.) zur Fütterung von Zucht- und Mastschweinen. Andererseits ist die Schweiz im Bezug auf Krankheiten frei vom Porcinen Reproduktiven und Respiratorischen Syndrom (PRRS), der Aujeszky'schen Krankheit (Schwermer und Sievi, 2009) und der klassischen und afrikanischen Schweinepest (BVET, 2009). In den Jahren 1996 bis 2004 wurde zudem eine Flächensanierung von *Mycoplasma hyopneumoniae* und *Actinobacillus pleuropneumoniae* Serotyp 2

durchgeführt (Stärk et al., 2007). Diese beiden Krankheiten kommen nur noch sporadisch vor und sind im schweizerischen Tierschutzgesetz als *zu bekämpfende Tierseuchen* aufgeführt. Durch das Fehlen dieser Krankheiten spielen einige als Kofaktoren von PCVD diskutierte Krankheiten in der Schweiz keine Rolle.

Mit dem Einsatz des Impfstoffes Enterisol® Ileitis wurde in einigen schweizerischen Betrieben nicht die erhoffte Verbesserung beobachtet. Grund dafür war wahrscheinlich eine vorherrschende PCV2-Infektion, welche einen grösseren Einfluss auf die Tiergesundheit hatte. Nach der Einführung von Impfstoffen gegen PCVD ging der Einsatz des Enterisol® Ileitis-Impfstoffes gegen PPE zurück, obwohl PCVD keinen Zusammenhang mit PPE aufweist. Die vorliegende Arbeit soll zeigen, ob bei der gleichzeitigen Applikation der Impfstoffe Enterisol® Ileitis und Ingelvac® CircoFLEX ein additiver Effekt auf die Leistungsparameter gegenüber den Monoanwendungen und/oder einer Placeboanwendung erreicht werden kann.

3 Material und Methoden

3.1 Betriebe

Die Studie wurde vom Mai 2008 bis Mai 2009 an zwei Standorten eines geschlossenen Produktionssystems – einem Zuchtbetrieb mit Aufzucht und einem Mastbetrieb – durchgeführt. Auf dem Zuchtbetrieb mit 58 Abferkelplätzen und rund 700 Absetzplätzen befanden sich im Jahresmittel 200 Muttersauen. Jede Woche ferkelten im Durchschnitt acht Muttersauen ab und mit vier bis fünf Wochen wurden die Ferkel abgesetzt. Anschliessend blieben sie bis zur Woche 12 in einem Zimmer mit vier Buchten auf dem Betrieb. Die Remonten stammten aus der eigenen Produktion. Die Rassenverteilung war wie folgt: ES x ES, ES x PI, ES x SL, ES x D oder F1 x PI (ES: Edelschwein; PI: Pietrain; SL: Schweizer Landrasse; D: Duroc; F1: ES x SL).

Der Mastbetrieb umfasste 800 Plätze mit Voll- oder Teilspaltenbuchten für sieben bis vierzehn Schweine. Die Tiere einer Woche wurden, soweit es die Stallaufteilung erlaubte, mindestens bis zur 20. Lebenswoche in benachbarten Buchten gehalten. Nach einer Umstallung am Ende der Mast war die Trennung zwischen den einzelnen Wochengruppen in der Endphase nicht immer gegeben. Sowohl der Zucht- wie auch der Mastbetrieb hatten klinische Probleme mit PCVD. Vor Versuchsbeginn wurde durch Sektionen gemäss international anerkannten Kriterien (Sorden, 2000) bei mehreren Tieren PMWS nachgewiesen. Das Vorkommen von *L. intracellularis* wurde durch den Antikörper (AK) -Nachweis in Seren und den Antigen-Nachweis in Kotproben belegt.

Auf den Betrieben wurde in einem Herdenscreening vor Versuchsbeginn auf PRRS, Salmonellose und die Erreger *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Brachyspira* (*B.*) *hyodysenteriae* und *B. pilosicoli* untersucht und nicht nachgewiesen.

Sowohl der Zucht- wie auch der Mastbetrieb hatten eine Komponentenfütterung. In der Zucht bekamen die Absetztiere eine Suppe bestehend aus Schotte, Weizenmilch, Gastronomiesuppe und Ergänzungsferkelfutter. Die Masttiere erhielten Schotte, Weizenmilch, Permelac (durch Eindampfung konzentrierte Molke), Joghurt, Eiweisskonzentrat und Ergänzungsmastfutter.

3.2 Versuchsaufbau

Die Studie umfasste 1565 Tiere, welche in vier Behandlungsgruppen aufgeteilt wurden:

- Behandlungsgruppe I: Placebo für Enterisol® Ileitis und Placebo für Ingelvac CircoFLEX®
- Behandlungsgruppe II: Ingelvac CircoFLEX® und Placebo für Enterisol® Ileitis
- Behandlungsgruppe III: Enterisol® Ileitis und Placebo für Ingelvac CircoFLEX®
- Behandlungsgruppe IV: Enterisol® Ileitis und Ingelvac CircoFLEX®

Ingelvac CircoFLEX® ist gemäss Angaben des Beipackzettels ein inaktivierter Impfstoff bestehend aus PCV2 ORF2- (Open reading frame-) Proteinen. Eine Impfdosis von 1 ml intramuskulär hat eine minimale Relative Potenz (RP) von 1,0 und eine maximale RP von 3,75 im Vergleich mit einem Referenzimpfstoff. Als Hilfsstoff wird 1 mg/ml Carbomer verwendet. Der Impfstoff ist für Tiere ab einem Alter von zwei Wochen zugelassen und führt durch eine aktive Immunisierung innerhalb von zwei Wochen zu einem Impfschutz, welcher mindestens siebzehn Wochen anhält.

Beim Enterisol® Ileitis-Impfstoff handelt es sich laut Hersteller um lebende, attenuierte *L. intracellularis* (MS B3903) Bakterien. In einer Impfdosis von 2 ml sind minimal $1 \times 10^{4,9}$ TCID₅₀ (Tissue Culture Infective Dose) und maximal $1 \times 10^{6,1}$ TCID₅₀ enthalten. Die gefriergetrockneten Bakterien werden mit Wasser verdünnt und den Saugferkeln ab einem Alter von drei Wochen per os eingegeben. Durch diese aktive Immunisierung bildet sich spätestens nach drei Wochen ein Impfschutz aus.

Als Placebo anstelle von Ingelvac CircoFLEX® wurde Natriumchlorid (0,9 %) und anstelle von Enterisol® Ileitis ein mit Natriumchlorid (0,9 %) aufgelöstes gefriergetrocknetes Medium (analog zum *L. intracellularis*-Impfstoff) verwendet. Aufgrund der unterschiedlichen Rassen und der relativ kleinen Anzahl an Saugferkeln pro Woche wurden immer zwei nachfolgende Wochengruppen der gleichen Behandlungsgruppe zugeordnet. Die vier Behandlungsgruppen wurden innerhalb eines Blocks von acht Wochen willkürlich angeordnet. Es gab drei Wiederholungen dieser Blöcke, wobei die Behandlungsgruppen jedes Mal zufällig angeordnet wurden. Da sich in der 24. Wochengruppe nur 33 Tiere befanden, wurde am Schluss eine zusätzliche 25. Wochengruppe angefügt. Die Ferkel einer Behandlungsgruppe wurden zum selben Zeitpunkt abgesetzt und nicht mit Tieren einer anderen Gruppe gemischt. Der Tierhalter wurde erst nach Ende der Studie über die Gruppenzugehörigkeit der Tiere informiert.

Die Impfung mit Enterisol® Ileitis und Ingelvac CircoFLEX® oder deren Placebo erfolgte zwischen dem 19. und 30. Tag (Bezeichnung „Woche 3“). Gleichzeitig mit beiden Applikationen wurden alle Tiere gewogen, Geschlecht und Abstammung notiert und mit einer handelsüblichen elektronischen ISO- (International Organization for Standardization-) Ohrmarke markiert. Die weiteren Wägungen der Einzeltiere fanden in Woche 12 (Ende Aufzucht) und Woche 18 (Mitte Mast) statt.

Pro Wochengruppe wurden zum Zeitpunkt der Impfung ein Ferkel pro Wurf oder mindestens 10 Ferkel zufällig ausgewählt und mit einer zusätzlichen roten Ohrmarke gekennzeichnet. Von diesen Tieren wurden in den Wochen 3, 7, 12, 15 und 18 Kot- und Blutproben (EDTA- und Vollblut) entnommen. Innerhalb von 12 Stunden wurde das Vollblut zentrifugiert und das gewonnene Serum, das EDTA-Blut sowie die Kotproben bei – 20°C gefroren.

Im Labor bioScreen in Münster (Deutschland) wurden die Seren mittels bioScreen Ileitis Antikörper ELISA auf *L. intracellularis*-AK untersucht. Für die TaqMan PCR mit SYBR Green (Roche Diagnostics AG, Rotkreuz, Schweiz) auf PCV2-Virus am Institut für Veterinärpathologie der Vetsuisse-Fakultät verwendete man eine DNA-Extraktion mit MagNA Pure LC Total Nucleic Acid Isolation Kit (Roche Diagnostics AG, Rotkreuz, Schweiz). Ebenfalls am Institut für Veterinärpathologie wurde von 176 Proben eine konventionelle PCR und falls diese positiv war eine Sequenzierung wie in der Dissertation von Wiederkehr (Wiederkehr et al., 2009) beschrieben durchgeführt. Die Kotproben wurden pro Wochengruppe und Entnahmezeitpunkt zufällig in zwei Gruppen aufgeteilt und gepoolt (je 3-5 Kotproben/Pool) und im Labor bioScreen Münster mittels PCR (Moller et al., 1998) auf *L. intracellularis* getestet.

3.3 Pathologie

75 % der gestorbenen und 100 % der aufgrund des schlechten Allgemeinzustandes euthanasierten Versuchstiere wurden am Institut für Veterinärpathologie der Vetsuisse-Fakultät in der Routinediagnostik untersucht. Bei jedem seziierten Tier wurden die lymphatischen Organe histologisch untersucht und mit IHC eine Untersuchung auf PCV2 durchgeführt. Die W+S-Versilberung wurde im Normalfall durchgeführt, entfiel aber bei fortgeschrittener Autolyse oder völlig unauffälliger Histologie des Darmgewebes.

3.4 Weitere erhobene Parameter

Von beinahe allen geschlachteten Tieren konnte das Schlachtagter und –gewicht, ermittelt werden. Das Lebendgewicht zum Schlachtzeitpunkt wurde aus dem Schlachtgewicht dividiert durch 79,5 % berechnet.

3.5 Ausschlusskriterien

Zum Zeitpunkt der Impfung direkt ausgeschlossen wurden kranke Tiere, Ferkel mit weniger als vier Kilogramm Körpergewicht, zur Zucht vorgesehene Ferkel und Tiere, welche nicht zwischen 19 und 30 Tagen alt waren oder welche zwischen drei Tagen vor und drei Tagen nach der Impfung mit Antibiotika behandelt waren. Diesen Tieren wurde der gleiche Impfstoff resp. Placebo wie den restlichen Tieren der Wochengruppe verabreicht.

Nachträglich ausgeschlossen wurden zwei ganze Wochengruppen, eine (Behandlungsgruppe I, n = 66) wegen einem im Vergleich zu allen anderen Wochengruppen signifikant höheren durchschnittlichen Gewicht zum Zeitpunkt der Impfung. Bei der zweiten Gruppe (Behandlungsgruppe III, n = 63) gab es einen massiven Ausbruch an *E. coli*-Durchfall, welcher einen zu starken Einfluss auf die Entwicklung der Tiere hatte. Einzeltiere wurden ausgeschlossen, falls sie nicht mit den restlichen Tieren der Behandlungsgruppe abgesetzt oder falls sie später in eine andere Behandlungsgruppe versetzt wurden (n = 31).

3.6 Statistische Auswertungen

Die statistische Einheit war das Einzeltier. Tageszunahmen wurden mit ANOVA ohne Verwendung von Kovariablen analysiert. Für den Vergleich der Mortalitätsraten wurde ein Chi-Quadrat-Test verwendet. Die statistischen Analysen wurden mit SAS (Statistical Analysis System; Version 8.2, Cary, USA) Software durchgeführt.

4 Resultate

In Tabelle 1 ist die Aufteilung der Tiere in die Behandlungsgruppen und das jeweilige Startgewicht, sowie die Auftrennung nach Geschlecht dargestellt. Die Rassenverteilung insgesamt und innerhalb der einzelnen Behandlungsgruppen ist in Tabelle 2 dargestellt. Die Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen waren nicht signifikant.

Tabelle 1: Die vier Behandlungsgruppen mit Startgewicht, -alter und Geschlechtsauftrennung

Parameter	I	II	III	IV	Total
Anzahl Tiere (n)	327	376	318	384	1405
Gewicht Impfzeitpunkt (kg)	6,54	6,60	6,59	6,78	6,63
Alter bei Start (Tage p.n.)	23,4	23,1	23,1	24,2	23,5
Weiblich (%)	42,2	39,6	41,5	39,3	40,6
Männlich kastriert (%)	57,8	60,4	58,5	60,7	59,4

Tabelle 2 : Die vier Behandlungsgruppen mit Verteilung der Rassen (%)

Mutter x Vater	I	II	III	IV	Total
F1 x PI	4,28	7,18	0,00	0,00	2,92
F1 x ES	0,00	2,93	0,00	0,00	0,78
ES x ES	26,61	38,03	45,60	40,36	37,72
ES x PI	59,33	31,65	29,56	29,43	37,01
ES x SL	9,79	20,21	9,75	30,21	18,15
ES x D	0,00	0,00	15,09	0,00	3,42

4.1 Mortalitätsraten und Sektionsergebnisse

4.1.1 Mortalitätsraten

In Tabelle 3 sind die Mortalitätsraten in der Aufzucht (Woche 3 bis Woche 12) und Mast (Woche 12 bis Schlachtung) sowie gesamthaft von Woche 3 bis Schlachtung dargestellt.

Tabelle 3: Mortalitätsraten insgesamt und aufgeteilt in Aufzucht und Mast

Zeitraum	Parameter	I	II	III	IV	Total
Total	Anzahl Tiere (n)	327	376	318	384	1405
	Mortalitätsrate (%)	8,3 ^a	4,0 ^b	5,3 ^{ab}	2,6 ^b	4,9
Aufzucht	Anzahl Tiere (n)	327	376	318	384	1405
	Mortalitätsrate (%)	2,1	1,6	3,1	1,6	2,1
Mast	Anzahl Tiere (n)	318	367	306	368	1359
	Mortalitätsrate (%)	6,3 ^a	2,5 ^b	2,3 ^b	1,1 ^b	2,9

Unterschiedliche Kleinbuchstaben (a/b) kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen mit einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$.

4.1.2 Sektionsergebnisse

Insgesamt wurden 55 Tiere am Institut für Veterinärpathologie der Vetsuisse-Fakultät untersucht. Bei 28 Schweinen konnte PCVD als Todesursache nachgewiesen werden. Bei 4 Tieren wurden mit der W+S-Versilberung intrazelluläre Stäbchen in der Ileumschleimhaut sowie für *L. intracellularis* typische histologische Veränderungen nachgewiesen. Die Aufteilung der Tiere mit PCVD auf die Aufzucht und Mast sowie die verschiedenen Behandlungsgruppen ist in Abbildung 1 dargestellt.

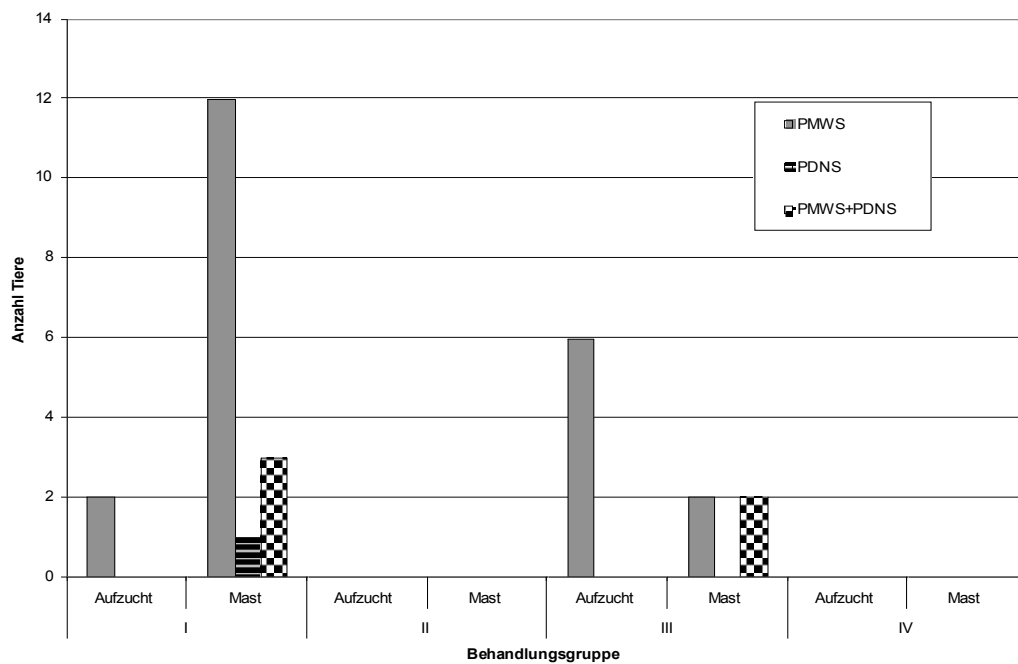


Abbildung 1: Todesfälle aufgrund einer PCV2-Infektion

Drei der vier W+S positiven Tiere waren zusätzlich am PMWS erkrankt. Ein Tier stammte aus der Gruppe I und zwei aus der Gruppe III. Das vierte Tier mit Nachweis von intrazellulären Stäbchen stammte aus der Behandlungsgruppe IV und verendete wegen einer Rechtsherzinsuffizienz. Eines der Tiere mit PMWS und Ileitis verendete in der Mastphase, die restlichen drei Tiere mit Ileitis bereits in der Aufzucht.

Von den restlichen 27 untersuchten Tieren verendeten 9 an einem Darmverschluss (Hämorrhagisches Intestinalsyndrom, Inkarzerationen oder Strangulationen), 5 wegen Durchfall im Alter zwischen 37 und 56 Tage post natum, wobei einmal *E. coli* (O141:K85) nachgewiesen wurde. Bei den restlichen 13 Tieren wurden verschiedene, von PCV2 und *L. intracellularis* unabhängige Krankheiten diagnostiziert.

4.2 Tageszunahmen

Die Tageszunahmen in der Aufzucht (Woche 3 bis Woche 12) betrugen in Behandlungsgruppe I 424 g (n = 318), in Gruppe II 408 g (n = 367), in Gruppe III 404 g (n = 306) und in der Behandlungsgruppe IV 422 g (n = 368). Die Tageszunahmen der Gruppen I und IV waren signifikant höher als die der Gruppen II und III. In Tabelle 4 sind die täglichen Zunahmen der Mast (Woche 12 bis Schlachtung) aufgeteilt auf die Behandlungsgruppen dargestellt. Die Masttageszunahmen der Gruppe IV waren signifikant tiefer als jene der anderen drei Gruppen. Die Gruppe I hatte signifikant höhere Tageszunahmen als die Gruppen II und III.

Tabelle 4: Tageszunahmen in der Mast

Parameter	I	II	III	IV
Anzahl Tiere (n)	283	312	292	359
Tageszunahme Mast (g/Tag)	751 ^a	772 ^b	774 ^b	792 ^c

Unterschiedliche Kleinbuchstaben (a/b/c) kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen mit einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$.

Die Verkleinerung der Gruppengrösse von anfangs 1405 Tieren zu 1359 Schweinen in der Woche 12 setzte sich aus den verendeten (n = 29) und vorzeitig verkauften

Tieren (n = 17) zusammen. Die nochmalige Verkleinerung bis zur Schlachtung (n = 1246) war wiederum auf Todesfälle (n = 40) und vorzeitig verkaufte Tiere (n = 17) zurückzuführen. Zusätzlich konnten von 20 Schweinen keine Schlachtdaten erhoben werden und 36 Tiere mussten wegen Platzmangels im Maststall nach der Woche 18 in einen anderen Maststall umgestallt werden. Grund für den vorzeitigen Verkauf und die Schlachtung als Spanferkel waren unter anderem Nabelbrüche, Lahmheiten, Hodenbrüche oder stark verbissene Schwänze.

4.3 Laboranalysen

4.3.1 Blutuntersuchungen

4.3.1.1 PCV2 PCR

Die Resultate der PCR-Untersuchung von PCV2-Antigen sind in Tabelle 5 zusammengestellt. Der Antigengehalt als Mittelwert und Standardabweichung ist in log 10 des Antigengehaltes pro µl angegeben. Aufgeteilt wurde in die zwei Gruppen, CF (mit Ingelvac CircoFLEX® geimpfte Tiere: Behandlungsgruppen II und IV) und nCF (nicht mit Ingelvac CircoFLEX® geimpfte Tiere: Behandlungsgruppen I und III). Bei der Sequenzierung der Proben konnte PCV2b nachgewiesen werden.

Tabelle 5: PCV2-Antigengehalt aufgeteilt nach Alter und Impfstoff (Mittelwert und Standardabweichung in log 10 des Antigengehaltes pro µl)

Zeitpunkt	CF			nCF		
	n	Mittelwert	Standardabweichung	n	Mittelwert	Standardabweichung
Woche 3	123	1,2	0,81	102	1,1	0,89
Woche 7	119	1,4	1,20	100	1,5	1,29
Woche 12	118	1,1	0,87	96	2,8	2,19
Woche 15	112	1,3	1,10	97	3,1	1,64
Woche 18	112	1,1	1,24	90	3,0	1,19

4.3.1.2 Ileitis-Antikörper

Die Zusammenstellung über den Nachweis von Ileitis-AK der beprobten Tiere ist in Tabelle 6 zusammengefasst.

Tabelle 6: Ileitis-AK in Blutproben aufgeteilt nach Alter

Zeitpunkt	Anzahl (n)	Positiv (%)	Negativ (%)	Fraglich (%)
Woche 3	225	4,4	91,6	4,0
Woche 7	219	0,9	96,3	2,7
Woche 12	214	76,6	14,0	9,3
Woche 15	208	90,9	4,3	4,8
Woche 18	201	84,6	6,5	9,0

Es gab keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen mit oder ohne Enterisol® Ileitis-Impfung. Bei der vergleichenden Betrachtung der einzelnen Wochengruppen wurde ersichtlich, dass in zwei Gruppen (Wochengruppe 20 und 21) in Woche 12 weniger als 50 % der Tiere positiv getestet wurden.

4.3.2 Kotuntersuchungen

4.3.2.1 Ileitis PCR

Alle Kotproben in Woche 3 (n = 45) enthielten keine nachweisbare *L. intracellularis*-DNA, in Woche 7 bzw. in Woche 12 (n = 45) waren 22,2 % bzw. 46,7 % der gepoolten Proben positiv. In der Woche 15 (n = 45) waren alle Testresultate negativ und in der Woche 18 (n = 43) konnten in sieben Pools Antigene nachgewiesen werden. Bis zur Woche 15 konnte man zwischen den mit Enterisol® Ileitis geimpften und den nicht geimpften keine deutlichen Unterschiede erkennen. In der Woche 18 stammten alle sieben positiven Proben aus der mit Enterisol® Ileitis geimpften Gruppe.

5 Diskussion

Aufgrund der gesammelten Daten ist ersichtlich, dass die zeitgleiche Verabreichung von Enterisol® Ileitis und Ingelvac CircoFLEX® (Gruppe IV) zu signifikanten Verbesserungen bei den Tageszunahmen und den Mortalitätsraten gegenüber den Placebo (Gruppe I) - und Monoanwendungen (Gruppe II und III) geführt hat. Die höhere Mortalitätsrate der Placebogruppe von Woche 3 bis Schlachtung und in der Mast ist sehr gut mit den Todesfällen aufgrund einer PCV2-Infektion vereinbar. Werden die Mortalitätsraten ohne diese Todesfälle berechnet, so sind die Differenzen der verschiedenen Behandlungsgruppen im Bezug auf diesen Parameter kleiner. Dadurch würde z.B. die Mortalitätsrate über die gesamte Versuchsdauer in Gruppe I von 8,3 % auf 2,8 % sinken (Vergleich Gruppe IV: 2,6 %). Die Beobachtung, dass die Todesfälle aufgrund einer PCV2-Infektion grossen Einfluss auf die Mortalitätsraten haben, wurde auch in anderen Studien (Cline et al., 2008; Desrosiers et al., 2009) gemacht. Da eine *L. intracellularis*-Infektion in der vorliegenden Untersuchung nie als Todesursache festgestellt worden ist, zeigt Enterisol® Ileitis keinen so deutlichen Einfluss auf die Mortalitätsrate wie Ingelvac CircoFLEX® oder die Kombination. In der Gruppe III mit Enterisol® Ileitis sind aber vor allem in der Mast deutlich weniger Tiere an einer PCV2-Infektion gestorben (n = 4) als in der Gruppe I (n = 16). Ingelvac CircoFLEX® schützt sehr zuverlässig vor einer PCVD, es wurde bei mit Ingelvac CircoFLEX® geimpften Tieren bei keinem verendeten Tier PCV2 als Todesursache diagnostiziert. Deutlich wird die Wirkung des Impfstoffes auch bei den Resultaten des PCV2-Antigengehaltes im Blut, bei welchen sich die Werte ab Woche 12 um ein bis zwei Zehnerpotenzen unterscheiden. Ähnliche Resultate der PCV2-PCR-Ergebnisse wurden schon in anderen Studien beschrieben (Cline et al., 2008; Fachinger et al., 2008). Dass die nicht mit Ingelvac CircoFLEX® geimpften Tiere zwischen Woche 7 und 12 einen massiven Anstieg des PCV2-Antigengehaltes aufwiesen und die Serokonversionen bei Ileitis erst in Woche 12 deutlich zunahm (Woche 7: 1 % positiv; Woche 12: 77 % positiv), lässt folgende Schlussfolgerungen zu. Der Impfzeitpunkt in Woche 3 (19 bis 30 Tage post natum) wurde früh genug angesetzt und zusätzlich mit der Betrachtung der Verteilung der Todesfälle in Aufzucht und Mast wird klar, dass die Tiere erst gegen Ende der Aufzucht und in einigen Fällen erst in der Mast mit den Erregern in Kontakt kamen. Während der Mast (Woche 12 bis Schlachtung) sind die

Tageszunahmen der Behandlungsgruppen mit Monoanwendungen signifikant höher als die der Placebogruppe (Enterisol® Ileitis: + 22 g/Tag; Ingelvac CircoFLEX®: + 21 g/Tag), in der Kombinationsgruppe mit + 41 g/Tag wurde sogar ein additiver Effekt beobachtet. Die Ergebnisse der Monoanwendungen in der Mast sind mit zahlreichen anderen Studien vereinbar (Fachinger et al., 2008; Kixmüller et al., 2008), so wurde z.B. in der Effektivitätsstudie mit Enterisol® Ileitis von Caspari et al 2009 eine Verbesserung der täglichen Zunahmen in der Mast um 18 g erreicht. Der späte Infektionszeitpunkt von beiden Erkrankungen könnte mit Grund dafür sein, dass in der Aufzucht (Woche 3 bis Woche 12) die Impfungen nicht zu einer Erhöhung, im Fall der Monoanwendungen sogar zu einer Erniedrigung der Tageszunahmen führten. Dies steht im Gegensatz zu mehreren anderen Studien, bei denen entweder nur Enterisol® Ileitis (Caspari et al., 2009; Deitmer et al., 2008) oder nur Ingelvac CircoFLEX® (Cline et al., 2008; Kixmüller et al., 2008) appliziert wurde. Da die Tiere mit beiden Impfungen gleiche Tageszunahmen wie die der Placebogruppe erreichten, ist nicht davon auszugehen, dass eine Impfung mit Aktivierung des Immunsystems zu einer kurzzeitigen Reduktion des Wachstums führte. Grösseren Einfluss auf die Tageszunahmen hatten eher andere, durch den Versuchsaufbau gegebenen Punkte. Wegen der geringen Anzahl an Würfen pro Woche konnte kein sonst üblicher side-by-side Versuch durchgeführt werden, sondern alle Saugferkel einer Woche wurden der gleichen Behandlungsgruppe zugeordnet. Dies hatte zur Folge, dass die Tiere der vier Behandlungsgruppen nicht immer den gleichen Umweltbedingungen ausgesetzt waren. Zum Beispiel könnte ein von *L. intracellularis* und PCV2 unabhängiges Krankheitsgeschehen oder wechselnde Jahreszeiten bei einer Versuchsdauer von einem Jahr Einfluss auf einzelne Wochengruppen gehabt haben. Die unterschiedliche Verteilung der Rassen auf die verschiedenen Behandlungsgruppen (Tabelle 2) hatte statistisch gesehen keinen Einfluss. Berechnungen der Tageszunahmen mit der Rasse als Kovariable zeigten keine Auswirkungen auf die statistisch signifikanten Unterschiede der Tageszunahmen zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen.

Nebenwirkungen bei der gleichzeitigen Anwendung von Enterisol® Ileitis und Ingelvac CircoFLEX® wurden nicht systematisch überprüft, jedoch wurden sowohl vom Tierhalter als auch vom Versuch betreuenden Tierarzt bei den 384 zweifach geimpften Tieren keine negativen Impfreaktionen beobachtet. Da Enterisol® Ileitis als Schluckimpfung zu einer lokalen (Nathues und grosse Beilage, 2008) und Ingelvac

CircoFLEX® als intramuskulär verabreichter Impfstoff zu einer systemischen Reaktion führt, sollte es keine gegenseitige negative Beeinflussung geben, was auch anhand der Leistungsparameter ersichtlich ist.

Die Tendenz in der Schweiz anstelle von Enterisol® Ileitis die Ingelvac CircoFLEX®-Impfung einzusetzen ist für die Prophylaxe gegen PCVD sicherlich wirksam. Die *L. intracellularis*-Problematik darf aber auf keinen Fall vergessen werden. Die Seroprävalenz in schweizerischen Betrieben ist mit 67 % sehr hoch und die Ileitis zeigt sich häufig nur in einer subklinischen Form. Ein allfälliger Antibiotikaeinsatz bei Krankheitsausbruch anstelle der prophylaktischen Impfung ist als Rückschritt in der schweizerischen Schweinemedizin zu betrachten. Die mit Enterisol® Ileitis und Ingelvac CircoFLEX® geimpften Tiere zeigten gegenüber den nur mit Ingelvac CircoFLEX® geimpften Tieren signifikante Vorteile bei den Tageszunahmen und eine deutliche Senkung der Mortalitätsrate gesamthaft und in der Mast.

6 Literaturverzeichnis

- Allan, G.M., Ellis, J.A. (2000): Porcine circoviruses: a review. *J Vet Diagn Invest* 12, 3-14.
- BVET (2009): Mitteilungen, Bulletin 15/09, 224.
- Caspari, K., Kümmerlen, D., Zimmermann, W. (2005): *Lawsonia intracellularis* infection in Switzerland. *International Pig Topics* 20, 7-9.
- Caspari, K., Kümmerlen, D., Voets, H., Eichin, E., Zeeh, H., Zimmermann, W. (2009): Field study about the use of Enterisol Ileitis in a swine herd in Switzerland. *Schweiz Arch Tierheilkd* 151, 31-32.
- Clark, E.G. (1997) of Conference: Post-Weaning Multisystemic Wasting Syndrome. In: 28th Annual Meeting of the American Association of Swine Practitioners, Quebec, 499-501.
- Cline, G., Wilt, V., Diaz, E., Edler, R. (2008): Efficacy of immunising pigs against porcine circovirus type 2 at three or six weeks of age. *Vet Rec* 163, 737-740.
- Deitmer, R., Bubikat, A., Keller, C., Adam, M., Voets, H. (2008) of Conference: The economic impact in nursery of embedded ileitis vaccination. In: 20th International Pig Veterinary Society Congress, Durban.
- Desrosiers, R., Clark, E., Tremblay, D., Tremblay, R., Polson, D. (2009): Use of a one-dose subunit vaccine to prevent losses associated with porcine circovirus type 2. *Journal of Swine Health and Production* 17, 148-154.
- Fachinger, V., Bischoff, R., Jedidia, S.B., Saalmüller, A., Elbers, K. (2008): The effect of vaccination against porcine circovirus type 2 in pigs suffering from porcine respiratory disease complex. *Vaccine* 26, 1488-1499.
- Harding, J.C.S., Clark, E.G. (1997): Recognizing and diagnosing postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Swine Health and Production* 5, 201-203.
- Jones, G.F., Ward, G.E., Murtaugh, M.P., Lin, G., Gebhart, C.J. (1993): Enhanced detection of intracellular organism of swine proliferative enteritis, ileal symbiont *intracellularis*, in feces by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 31, 2611-2615.
- Kixmüller, M., Ritzmann, M., Eddicks, M., Saalmüller, A., Elbers, K., Fachinger, V. (2008): Reduction of PMWS-associated clinical signs and co-infections by vaccination against PCV2. *Vaccine* 26, 3443-3451.
- McOrist, S., Boid, R., Lawson, G.H., McConnell, I. (1987): Monoclonal antibodies to intracellular campylobacter-like organisms of the porcine proliferative enteropathies. *Vet Rec* 121, 421-422.
- McOrist, S., Gebhart, C.J., Boid, R., Barns, S.M. (1995): Characterization of *Lawsonia intracellularis* gen. nov., sp. nov., the obligately intracellular bacterium of porcine proliferative enteropathy. *Int J Syst Bacteriol* 45, 820-825.
- McOrist, S., Gebhart, C.J. (1999): *Porcine Proliferative Enteropathies*, 8 Edition. Iowa State Univ. Press, 521-534.
- Møller, K., Jensen, T.K., Jorsal, S.E., Leser, T.D., Carstensen, B. (1998): Detection of *Lawsonia intracellularis*, *Serpulina hyodysenteriae*, weakly beta-haemolytic intestinal spirochaetes, *Salmonella enterica*, and haemolytic *Escherichia coli* from swine herds with and without diarrhoea among growing pigs. *Vet Microbiol* 62, 59-72.

- Nathues, H., grosse Beilage, E. (2008): Diagnosis of *Lawsonia intracellularis* infection in pigs after vaccination or antimicrobial treatment. Dtsch Tierarztl Wochenschr 115, 404-409.
- Opriessnig, T., Meng, X.J., Halbur, P.G. (2007): Porcine circovirus type 2 associated disease: update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. J Vet Diagn Invest 19, 591-615.
- Rosell, C., Segales, J., Plana-Duran, J., Balasch, M., Rodriguez-Arrioja, G.M., Kennedy, S., Allan, G.M., McNeilly, F., Latimer, K.S., Domingo, M. (1999): Pathological, immunohistochemical, and in-situ hybridization studies of natural cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. J Comp Pathol 120, 59-78.
- Schwermer, H., Sievi, M. (2009): Stichprobenuntersuchungen 2008, BVET, In: http://www.bvet.admin.ch/gesundheit_tiere/00314/index.html?lang=de, 3.
- Segalés, J., Allan, G.M., Domingo, M. (2005): Porcine circovirus diseases. Anim Health Res Rev 6, 119-142.
- Smith, W.J., Thomson, J.R., Done, S. (1993): Dermatitis/nephropathy syndrome of pigs. Vet Rec 132, 47.
- Sorden, S.D. (2000): Update on porcine circovirus and postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). Swine Health and Production 8, 133-136.
- Stärk, K.D., Miserez, R., Siegmann, S., Ochs, H., Infanger, P., Schmidt, J. (2007): A successful national control programme for enzootic respiratory diseases in pigs in Switzerland. Rev Sci Tech 26, 595-606.
- Suisag (2009): Zahlen und Projekte 2008, In: <http://www.suisag.ch/ÜberSUISAG/Geschäftsbericht/tabid/144/Default.aspx> (Ed.), 31.
- Wellenberg, G.J., Stockhofe-Zurwieden, N., de Jong, M.F., Boersma, W.J., Elbers, A.R. (2004): Excessive porcine circovirus type 2 antibody titres may trigger the development of porcine dermatitis and nephropathy syndrome: a case-control study. Vet Microbiol 99, 203-214.
- Wiederkehr, D.D., Sydler, T., Buergi, E., Haessig, M., Zimmermann, D., Pospischil, A., Brugnera, E., Sidler, X. (2009): A new emerging genotype subgroup within PCV-2b dominates the PMWS epizooty in Switzerland. Vet Microbiol 136, 27-35.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen herzlich danken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

Herrn Dr. X. Sidler, Abteilung für Schweinemedizin der Vetsuisse-Fakultät Zürich für die Überlassung des interessanten Themas und die gewährte Unterstützung

Herrn Prof. Dr. A. Pospischil, Institut für Veterinärpathologie der Vetsuisse-Fakultät Zürich, für die Übernahme des Hauptreferates

Herrn Prof. R. Thun, Departement für Nutztiere der Vetsuisse-Fakultät Zürich, für die Übernahme des Korreferates

Den Betriebsleitern für die Bereitschaft am Projekt teilzunehmen und die super Unterstützung auf den Betrieben

Dem Boehringer Ingelheim Team, insbesondere Dr. B. grosse Liessner, H. Voets, Dr. P. Maass, St. Dollé und Dr. F. Schreiber für die sehr gute Betreuung

Herrn R. Gössl, Boehringer Ingelheim, für die Hilfe bei der statistischen Auswertung

Herrn F. Burose, ART Tänikon, für die sehr gute Zusammenarbeit auf den Betrieben, den Schlachthöfen und bei der Datensammlung

Frau Dr. E. Bürgi und allen AssistentInnen der Abteilung für Schweinemedizin, welche mich bei der Datensammlung tatkräftig unterstützt haben

Frau R. Weilenmann, Institut für Veterinärpathologie der Vetsuisse Fakultät Zürich und Herrn Dr. Chr. Keller, Labor bioScreen Münster für die Bearbeitung der Proben

Der Firma Boehringer Ingelheim GmbH, Ingelheim für die finanzielle Unterstützung des Projektes